动 物 学 研 究 2010，Feb. 31(1)：2−16 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI：10.3724/SP.J.1141.2010.01002

动物毒素与人类疾病
——从单一成分到组学研究，从理化性质到疾病机理，从粗毒利用到理性药物设计

吕秋敏，赖 仞，张 云*

(中国科学院和云南省动物模型与人类疾病机理重点实验室，中国科学院昆明动物研究所，云南 昆明 650223)

摘要：为了适应环境，很多动物在长期的进化过程中演化出了丰富的毒素及相关分泌物。这些物质中包含了高活性、作用专一的蛋白和多肽。由于它们作用的特异性和专一性，成为蛋白质多肽结构与功能研究的良好模型，也成为研究人类自身生理病理机制的工具和线索，同时也是开发临床诊断试剂和治疗药物的天然宝库。该文综述了中国科学院昆明动物研究所 30 多年来立足于我国丰富的有毒动物资源，对陆生有毒动物，包括蛇毒、两栖类皮肤分泌物及节肢动物唾液腺分泌物等的主要研究工作，总结了从单一成分到组学研究、从理化性质到人类疾病机理、从粗毒利用到理性药物设计等的发展历程，并对今后的研究提出一些建议。

关键词：动物毒素；蛇毒；两栖动物；皮肤分泌物；节肢动物；昆虫；唾液腺
中图分类号：R996.3；Q959.5；Q959.22；Q96 **文献标识码**：A **文章编号**：0254-5853-(2010)01-0002-015

Animal Toxins and Human Disease：from Single Component to Venomics, from Biochemical Characterization to Disease Mechanisms, from Crude Venom Utilization to Rational Drug Design

LU Qiu-Min，LAI Ren，ZHANG Yun*

(*Key Laboratory of Animal Models and Human Disease Mechanisms, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming* 650223, *China*)

Abstract: Many animals produced a diversity of venoms and secretions to adapt the changes of environments through the long history of evolution. The components including a large quantity of specific and highly active peptides and proteins have become good research models for protein structure-function and also served as tools and novel clues for illustration of human disease mechanisms. At the same time, they are rich natural resources for new drug development. Through the valuable venomous animal resources of China, researchers at the Kunming Institute of Zoology, CAS have carried out animal toxin research over 30 years. This paper reviews the main work conducted on snake venoms, amphibian and insect secretions, and the development from single component to venomics, from biochemical characterization to human disease mechanisms, from crude venom to rational drug design along with a short perspective on future studies.

Key words: Animal toxin; Venom; Amphibian; Skin secretion; Arthropod; Insect; Salivary gland

1974 年中国科学院昆明动物研究所动物毒素研究室的成立，拉开了动物毒素研究的序幕。当时的研究主要集中在有毒毒物防治和蛇毒活性成分的分离纯化、理化性质研究。在几十年的研究工作中，潘清华、李靖炎、叶智彰、涂光俦、龚潮梁、熊郁良、王婉瑜、肖昌华、冉永禄、蔡景霞、邹如

收稿日期：2009-12-22；接受日期：2010-01-01
基金项目：973 项目（2010CB529800）；国家基金委重点项目（30630014）；国家基金委面上项目（30870304）；中国科学院重要方向项目(KSCX2-YW-R-088)
*通讯作者(Corresponding author)，Tel：0971-5194279，E-mail：zhangy@mail.kiz.ac.cn
第一作者简介：吕秋敏，男，副研究员，主要从事动物毒素结构与功能研究

金、杨大同等前辈付出了艰辛的努力。他们的工作，使中国科学院昆明动物研究所的毒素研究工作从无到有，从基础的资源调查和积累到结构与功能研究，从跟踪国外研究到今天的国际研究前沿，成为中国科学院昆明动物研究所科研工作的一个特色和亮点。

在丰富多彩的生物中，很多动物为了捕食、消化、防御等，一些器官比如蛇的毒腺、两栖类的皮肤、昆虫/节肢动物的唾液腺等演化出了特殊的功能。这些器官可以分泌活性特异、作用专一的蛋白质和多肽。为叙述方便，本文把涉及到的这些蛋白质和多肽都归为"动物毒素"，但需注意有些动物分泌的多肽和蛋白质，如两栖类动物皮肤分泌物中的多肽和蛋白质并不是严格意义上的"动物毒素"，它们在两栖类皮肤中担任重要的生理功能，只是由于含量大，活性高而对哺乳动物"有毒"。能分泌动物毒素的动物主要包括爬行动物，例如毒蛇、毒蜥蜴等；两栖动物，例如蟾蜍、蛙；软体动物，例如蜗牛、芋螺、海葵等；节肢动物，例如蜘蛛、蜱、蜈蚣、蝎子、牛虻等。按照动物毒素分子量的大小，主要可以分为小分子有机、多肽和蛋白质类。它们的结构非常丰富。从一级结构来说，它们有的由几个氨基酸组成，有的拥有几百个氨基酸；它们的高级结构，有的是简单的无规卷曲，有的是复杂的多亚基蛋白复合体。

动物毒素的毒理作用非常广泛。以人体为例，它们的作用几乎涵盖了人体的各个生理系统。其中，与血液系统、免疫系统、神经系统的关键部位联系较为紧密。动物毒素中的很多成分可以分别作用于血液系统的各个因子，多种细胞膜受体和离子通道、补体系统等。另外，很多动物毒素对微生物，特别是细菌有非常的强的杀灭作用。

按照结构、作用靶点和毒理活性，蛇毒中主要包含神经毒、细胞毒、蛋白酶抑制剂、磷酯酶A_2、去整合素、利尿利钠肽、血管生成因子、舒缓激肽增强肽、神经生长因子、免疫排斥抑制剂CVF、凝集素、C-型凝集素、丝氨酸蛋白酶、金属蛋白酶、富半胱氨酸蛇毒蛋白(CRVP)和其他酶酶类(主要包含氨基酸氧化酶、透明脂酸酶、5′核苷酶、胆碱酯酶等)。同一家族的类似物很可能有不同的作用位点　。例如不同C-型凝集素可分别作用于血液IX/X因子、血小板膜糖蛋白GPIB、GPVI和GPIaIIa等。不同的丝氨酸蛋白酶和金属蛋白酶可以分别作用于血液系统的多个因子、上皮细胞等。

两栖类皮肤分泌液中有四大类生物化学成分，它们是: 生物胺、蟾蜍配基、生物碱和多肽与蛋白质。其中多肽和蛋白质主要包括抗菌肽、丝氨酸蛋白酶抑制剂、缓激肽、血管紧张素样肽、铃蟾肽、雨蛙肽、蛙啡肽、趋化性蛙多肽类、Tryptophillin多肽、爪蟾肽、爪蟾钙调素基因相关肽、蛋白酶等。

节肢动物唾液腺或毒腺中主要包含过敏原、抗血小板集聚因子、免疫抑制剂多肽、凝血酶抑制剂、抗凝血的丝氨基酸蛋白酶、纤维蛋白原水解酶、三个家族的抗菌肽、透明质酸酶、血管舒张因子、抗氧化金属硫蛋白、离子通道激活/拮抗剂等。

关于蛇毒、两栖动物皮肤分泌物和节肢动物唾液腺分泌物已经有很多优秀的综述。本文仅对从 70 年代起的中国科学院昆明动物研究所动物毒素研究工作做一个简要的介绍。

1　蛇　毒

世界上有 200 多种毒蛇，主要属于眼镜蛇科、蝮亚科和蝰亚科。昆明动物研究所的蛇毒研究主要集中在我国常见的若干毒蛇蛇毒(The Forth Lab of Yunnan Institute of Zoology，1976；Zhang et al, 1980; Ye et al，1981), 包括眼镜蛇(*Naja naja*)、眼睛王蛇(*Ophiophagus hanna*n)、金环蛇(*Bungarus fasciatus*)、银环蛇(*Bungarus multicinctus*)、五步蛇(*Deinagkistrodon acutus*)、竹叶青(*Trimeresurus stejnegeri)*、蝰蛇(*Vipera russellii*)、烙铁头(*Trimeresurus mucrosquamatus*)和菜花烙铁头(*Trimeresurus jerdonii*)等。一种蛇毒一般都含有多种毒素组份，它们分别作用于猎物或捕食者的心血管系统、免疫系统、神经系统等以适应取食、防御等行为的需要。虽然很多蛇毒毒素的研究仅局限于某个成分的性质，但是各个毒素成分的协同作用以及体内外活性的差异也不容忽视。

1.1　神经毒和细胞毒

神经毒可以和神经肌肉接头处的乙酰胆碱受体结合，从而阻断神经信号的传递。它们的结构非常相似，一般由 60～72 个氨基酸组成。从眼镜蛇和眼镜王蛇等蛇毒中分离得到多个新的神经毒素(Cai et a, 1980; Lu et al, 2002a; He et al, 2004)。与中国科学院生物物理研究所合作测定了眼睛蛇毒中一个新神经毒的三级结构(Cheng et al, 2002)。结构与功能的研究表明 LoopIII 的氨基酸残基对其与受

体的结合至关重要(Meng et al, 2002)。

虽然细胞毒和神经毒结构类似，但是目前的研究还未能找到它们作用的准确位点。不同来源的细胞毒素具有不同的毒理功能，例如溶血、肌肉毒性等(Wang et al, 1998)。眼镜蛇毒细胞毒对肿瘤细胞有一定的杀伤作用(Xiong et al, 1989)。另外，对三个眼睛蛇毒细胞毒的研究发现，它们可以不可逆地损伤大鼠隔肌肌肉神经标本(Wang et al, 1998)。

1.2 去整合素

蛇毒去整合素蛋白(disintegrin)家族一般具有分子量低、半胱氨酸丰富、含 RGD 三肽等结构特点，因其能与配基竞争结合细胞表面的整合素受体，干扰整合素的正常功能而呈现出多方面的生物学活性，如抑制血小板聚集、抑制肿瘤转移和诱导细胞凋亡等。

菜花烙铁头蛇毒中分离并克隆到两个新的去整合素。它们均能抑制 ADP、胶原、凝血酶诱导的人血小板的聚集，还能够抑制 B16 肿瘤细胞增和小鼠精卵受精过程(Zhou et al, 2004a; Zhou et al, 2004b)。从同种蛇毒中还得到的一个含 RTS 而非 RGD 结构的新型去整合素(Sanz et al, 2005)。它的 cDNA 是第一个发现的具有完整开放阅读框的短链去整合素，提示它可能起源于短编码基因。

1.3 抗菌肽(cathelicidin)

Cathelicidin 是一类具有抗菌活性的小肽。它们最早在哺乳动物中发现。在天然免疫中具有重要的作用。最近，cathelicidin 类似物在多个物种中发现。在金环蛇和眼镜王蛇中分别克隆到 cathelicidin 类似物(Zhao et al, 2008；Wang et al, 2008)。这是首次在爬行动物中发现此类物质。蛇毒中的 cathelicidin 具有广谱的抗菌活性，特别对格兰氏阴性菌。与人源的 cathelicidin 相比，眼镜王蛇的 cathelicidin 溶血活性较低，而且其抗菌活性不受金属离子及黏蛋白的影响(Zhao et al, 2008)。

1.4 神经生长因子

蛇毒中含有一类和人源神经生长因子 B 链结构类似的神经生长因子。眼镜蛇中克隆和纯化的神经生长因子可以促进 PC12 细胞和鸡胚背根神经节的生长。与人源的神经生长因子相比，它的稳定性和活性相对较高。另外，它还可以防止棉酚造成的雄性小鼠不育(Xu et al, 1999b)。

1.5 CVF

CVF(cobra venom factor)可以和血浆因子 B 结合，从被血浆因子切割成 CVF Bb 和 CVF Ba。Bb 是一个 C3/C5 转化酶，可以激活补体替代途径，消耗补体 C3 (Sun et al, 2001)。我们与华中科技大学同济医学院等单位合作将 CVF 运用到在猪-猴心脏异种器官移植等动物模型中。CVF 可抑制超急性排斥，延长试验动物的存活时间(Sun et al, 2003; Chen et al, 2004a; Chen et al, 2004b)。另外，与加拿大西安大略大学合作，用 CVF 为对照，研究了 Gal 基因敲除猪肾脏移植给狒狒。结果表明其他非 Gal 抗原会对 Gal 敲除猪器官移植给人类有影响(Chen et al, 2005)。

1.6 C-型凝集素

蛇毒中大多数C-型凝集素样蛋白分子是由α链及β链靠一条链间二硫键共价结合而成的异质二聚体。α及β链结构相似，各含有一个CRD序列。与真凝集素相比，它们没有糖结合活性。目前已经从多种蛇毒中发现了C-型凝集素(Zhong et al, 2006; Lee et al, 2003a, b; Zha et al, 2001)。它们主要和血液凝固Ⅸ／X因子结合，或者作用于血小板膜糖蛋白受体GPIB、GPⅥ、GPIIb/IIIa、GPIaIIa等(Lee & Zhang, 2003, Lu et al, 2005a, b)。烙铁头蛇毒C-型凝集素mucetin是一个新的人血小板GPIb激动剂(Wei et al, 2002)，我们与瑞士伯尔尼大学合作研究发现，它通过与血小板GPIb受体结合，引起后者产生激活血小板酪氨酸磷酸化途径的信号。通过信号分子Syk、FcRγ、Src、LAT等的传导，激活血小板磷酯酶PLCγ_2，从而引起血小板的聚集(Tai et al, 2004; Lu et al, 2004)。深入的研究还发现mucetin诱导血小板激活后可以引起GPIb等分子向细胞骨架的迁移。这些过程不依赖于Src、Syk等蛋白激酶，也不依赖于血小板膜糖蛋白IIbIIIa，而与血小板内的钙离子和细胞骨架的聚集相关(Lu et al, 2005c)。竹叶青蛇毒中的C-型凝集素stejnuxin结合血小板膜受体GPⅥ，导致FcRγ链的酪氨酸磷酸化而被激活，FcRγ链的活化致使蛋白质酪氨酸激酶(Syk、Src、LAT)，最后导致血小板中磷酯酶PLCγ_2激活，从而引起血小板聚集(Lee et al, 2003c)。

1.7 丝氨酸蛋白酶

蛇毒丝氨酸蛋白酶含有丝氨酸蛋白酶特有的活性中心保守区域，其中含有His、Asp和Ser残基组成的酶活性中心。依丝氨酸蛋白酶作用底物的差异，可分为血液凝固第V因子激活剂、凝血酶样酶、纤溶酶及蛋白C激活剂等(Zhang et al, 1998a)。对蛇

毒中蛋白酶的研究，最早都集中在蝮蛇和五步蛇的凝血酶样酶和纤溶酶(Tu et al, 1985; Wang et al, 1982; He et al, 1990; Xiao et al, 1989)。对菜花烙铁头蛇毒和竹叶青蛇毒丝氨酸蛋白酶的系统研究发现，它们具有高度的序列相似性(60%～80%)，但底物专一性却有较大的分化(Liu & Xiong, 1990; Zhang et al, 1995a, b; Gao et al, 1998; Zhang et al, 1998b, c, d; Lu et al, 2000; Jin et al, 2001; Jin et al, 2002; Lee et al, 2003d; Jia et al, 2003; Jin et al, 2005)。另外，这些蛇毒中还含有一类活性中心突变的丝氨酸蛋白酶类似物(Wu et al, 2008)。首次从眼镜蛇中克隆到了丝氨酸蛋白酶基因(Jin et al, 2007a)。

昆明动物研究所和法国巴斯德研究所合作在中国产竹叶青蛇毒中发现的TSV-PA是第一个爬行类动物纤溶酶原激活剂(Zhang et al, 1995a, c)。空间模拟和定点突变研究表明，DDE(96-98)位点在TSV-PA的纤溶酶原底物识别中具有关键作用(Zhang et al, 1997)。该蛋白酶的空间结构由德国1988年诺贝尔化学奖获得者Huber和其同事解析，成为第一个解析的蛇毒丝氨酸蛋白酶结构，显著推动相关领域的研究，见图1。



图 1　竹叶青蛇毒中发现的纤溶酶原激活剂 TSV-PA 的空间结构(Parry et al, 1998)

Fig. 1 Structure of TSV-PA, a plasminogen activator from *Trimeresurus stejnegeri* venom(Parry et al, 1998)

1.8　金属蛋白酶

多数金属蛋白酶可以作用于血管外细胞基质引起出血。它们的酶活性都需要金属离子的参与。蛇毒中的金属蛋白酶按结构可分为 I 型：只含有金属蛋白酶结构域；II 型：含有一个去整合素结构域和一个 C-端金属蛋白酶结构域；III 型：N 端是金属蛋白酶结构域，C 端是去整合素和富半胱氨酸结构域；IV 型比 III 型多了一个 C-型凝集素结构域。它们也可以作用于多种凝血因子，例如 FV，FX，凝血酶原，纤维蛋白原等。早期研究较多的是蝮蛇中的出血毒素(Ran & Tu, 1987; Ran et al, 1994)。眼镜王蛇的一个蛋白酶可以激活 FX(Lee et al, 1995)；眼镜王蛇里的另外一个金属蛋白酶可以抑制细胞增殖(Wan et al, 2006a, b)；竹叶青来源的一个 III 型金属蛋白酶可以抑制血小板聚集(Guo et al, 2007)；而菜花烙铁头蛇毒中的一个高分子量 III 型的金属蛋白酶可以切割人激活的凝血酶原的 F1 片段(Chen et al, 2004)。对菜花烙铁头蛇毒中一个 II 型金属蛋白酶的研究表明，它金属蛋白酶结构域和去整合素结构域分别多了一个半胱氨酸，可以形成稳定的二硫键。不像其它 II 型金属蛋白酶，它的两个结构域不会因为水解而分离(Chen et al, 203)。

1.9　L-氨基酸氧化酶

L-氨基酸氧化酶是一类非共价结合 FAD 或者 FMN 的酶类。 蛇毒中的氨基酸氧化酶一般由相同的两个亚基组成。多种蛇毒中都含有氨基酸氧化酶。它可以催化氨基酸脱氨成为酮酸。虽然氨基酸氧化酶的酶学性质已经研究了很多，可是它们的生理活性还不清楚。很多氨基酸氧化酶分别从眼镜王蛇、眼镜蛇、烙铁头、菜花烙铁头、蝰蛇中纯化和克隆(Jin et al, 2007b; Li et al, 2008; Lu et al, 2002; Wei et al, 2003; Zhang et al, 2003; Zhong et al, 2009)。有证据表明，它们的生理活性并不完全依赖其酶活性。眼镜蛇毒氨基酸氧化酶可以活化血小板。虽然过氧化氢酶可以抑制其活性，但它和血小板的结合还是起到了一定的作用(Li et al, 2008)。竹叶青来源的氨基酸氧化酶有抗 HIV 病毒活性，它的活性也并不完全依靠其酶活性(Zhang et al, 2003)。提示蛇毒氨基酸氧化酶在不同的细胞或者病毒中可能有结合位点。

2　两栖动物皮肤分泌物

两栖动物的皮肤是其生存的重要器官。它担负着许多生理功能，如呼吸、水分调节、温度控制、排泄、繁殖、抵抗微生物、防御天敌等。两栖动物

的皮肤分泌物中的活性成分在这些功能中起到了非常重要的作用。对中国两栖动物皮肤分泌物的研究主要集中在红瘰疣螈(*Tylototriton verrucosus*)、华西蟾蜍(*Bufo andrewsi*)、大蹼铃蟾(*Bombina maxima*)、黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)、沼蛙(*Rana guentheri*)和泽蛙(*Rana limnocharis*)等种类中(Lai et al, 2002a)。以大蹼铃蟾为代表物种，揭示了两栖类皮肤分泌物蛋白多肽组有丰富的结构和功能多样性。同时，它们基因组具有丰富的多样性和快速重组突变的特征，是研究生物适应性的基因基础；基因形成机制和进化的优秀模型(Zhang 2006; Lai et al, 2004a; Lai et al, 2002b)。

2.1 抗菌肽

两栖动物裸露的皮肤直接接触于外界环境，没有任何遮盖与保护，且其生活环境潮湿，滋生了大量的微生物。两栖动物裸露的皮肤必须具有强大的抗微生物感染能力才可能抵御微生物的感染。通过对多种两栖动物皮肤分泌液中活性成分结构、功能、作用机制的研究，发现了大量的有利于两栖动物生存的物质，尤其是抗菌肽。抗菌肽是一类新型的抗微生物物质，它们是一类小分子多肽(相对分子质量低于 1 万)。抗菌肽的最大优势就是很难导致细菌的耐药性，从而引起世界的密切关注，很可能成为新型的抗生素 (Zhang, 2006)。

运用蛋白质组学研究方法，从两栖动物发现了400 种以上的抗菌肽，属于 65 个不同的多肽家族，占目前世界已知抗菌肽总数 1500 种(110 个家族)的25%以上，并对其结构、功能和基因进行了全面的研究(Chen et al, 2008; Lee et al, 2005a; Li et al, 2007a; Lu et al, 2006; Wang et al, 2008a; Wang et al, 2007; Xu et al, 2006; Chen et al, 2007; Lu et al, 2008a；Song et al, 2009)。这些抗菌肽包含了首次在真核生物中发现的含有自由巯基的抗菌肽 (Lee et al, 2005b) 和自然界中发现的第一个基因编码的酸性抗菌肽(Lai et al, Lai et al, 2002c)。

大蹼铃蟾皮肤分泌物中主要含有三类抗菌肽：maximin、maximin H 和 maximin S(Lai et al, 1998; Lai et al, 2002d; Wang et al, 2005)。抗菌肽编码基因属于多拷贝基因家族。结构域重组或者基因转化在它们的基因中频繁发生。编码区域的非同义位点核酸替换率明显高于同义位点核酸替换率，而信号肽、前肽、间隔肽等未发现这种现象(Lee et al, 2005a)，揭示抗菌肽基因在与病源微生物相互作用中经受着达尔文正选择驱动的快速进化，产生了抗菌肽的多样性，以适应多样的微生物环境。图 2 显示了大蹼铃蟾抗菌肽的基因结构。

抗菌肽氨基酸序列中由于含有多个碱性氨基酸(如赖氨酸、精氨酸)而容易被丝氨酸蛋白酶水解，从而限制了抗菌肽作为抗感染药物的体内使用。同时具有抗菌活性和蛋白酶抑制剂活性的抗菌肽是

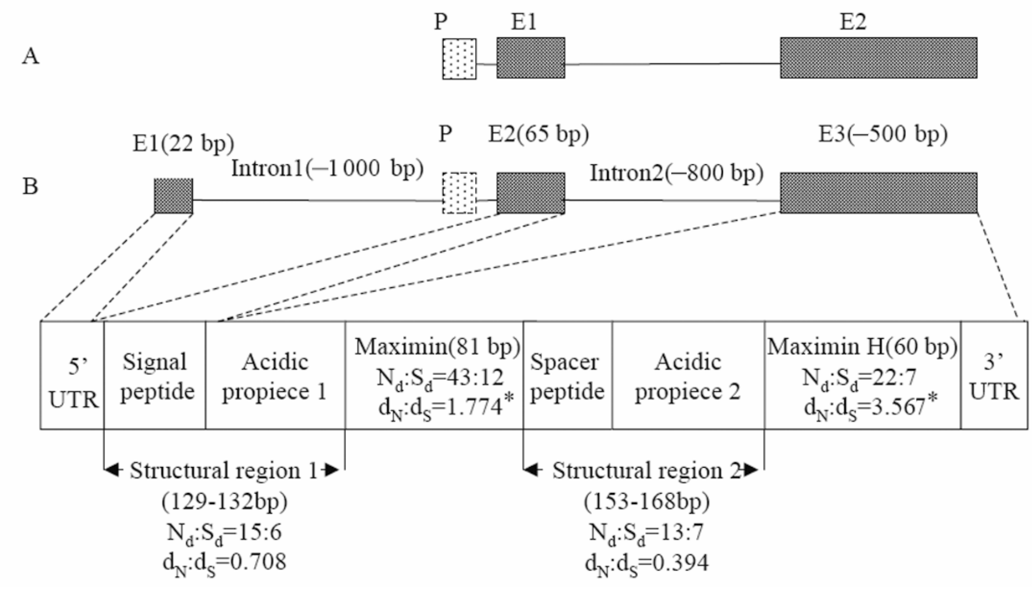


图 2 大蹼铃蟾抗菌肽基因结构及抗菌肽的加速进化 (Lee et al, 2005a)

Fig. 2 Gene structure of *Bombina maxima* antimicrobial peptides and their accelerated evolution(Lee et al, 2005a)

适用于作为体内使用的抗感染药物候选物。中国科学院昆明动物研究所与中国科学院生物物理研究所合作对抗菌肽进行了大量的修饰和改造，最后成功地设计了同时拥有抗菌活性和蛋白酶抑制剂活性的抗菌肽(Li et al, 2007b)。这些改造的双功能多肽为抗菌肽的体内应用打下了坚实基础，见图 3。

2.2　蛋白酶抑制剂

丝氨酸蛋白酶抑制剂在蛋白酶生理功能调节中具有重要作用，还参与机体的天然免疫应答和肿瘤发生。此类物质广泛存在于两栖皮肤分泌物中(Han et al, 2008; Li et al, 2008a; Lu et al, 2008b)。从华西蟾蜍皮肤分泌物中得到一个竞争性抑制剂和一个 serpin 类不可逆抑制剂(Lai et al, 2002e)；从大蹼铃蟾皮肤分泌物中分离出一中新的胰蛋白酶抑制剂 BMTI。与以前发现的 BSTI 不同，BMTI 不具有凝血酶抑制活性(Zhao et al, 2005a, b)。目前，这些抑制剂在两栖类皮肤分泌物中的功能还不清楚。可能与其它生物活性肽的加工有调节作用。也可能直接或者间接参与抵御外界生物入侵。

2.3　皮肤白蛋白

血清白蛋白是脊椎动物血浆中含量最丰富，最易纯化的白蛋白，因而是血浆中研究最早，最清楚的组分。在大蹼铃蟾(*Bombina maxima*)皮肤匀浆物中分离得到一个相对分子质量为 6.7×10^4的大蹼铃蟾皮肤白蛋白(Zhao et al, 2005c)。它由三个保守的血清白蛋白结构域组成，并且和人血清白蛋白及牛血清白蛋白有一定序列相似度。与大蹼铃蟾自身的血清白蛋白仅相差两个氨基酸残基。值得注意的是，大蹼铃蟾皮肤白蛋白中含有大量的血红素b。它可以抑制胰蛋白酶水解小肽底物，这时首次发现白蛋白具有蛋白酶抑制剂活性(Zhang et al, 2005)。它还可以进入T淋巴细胞H9 等细胞发挥作用。它结合的血红素b可能是其细胞毒性及诱导细胞凋亡的重要因素(Zhang et al, 2006)。

2.4　哺乳动物激素和神经递质类似物

Bombinainin M 是来源于大蹼铃蟾皮肤的由 19 个氨基酸组成的缓激肽(Lai et al, 2003a; Lee et al, 2005c, Shen et al, 2005)。与其他来源的缓激肽分子在 N-端氨基酸序列上有显著差异。首次从低等脊椎动物中克隆到编码缓激肽的 cDNA。其特征在于前体由 1～8 个重复单元构成，并且与新发现的激肽增强肽，激肽 B2 受体抑制剂和缓激肽基因相关肽

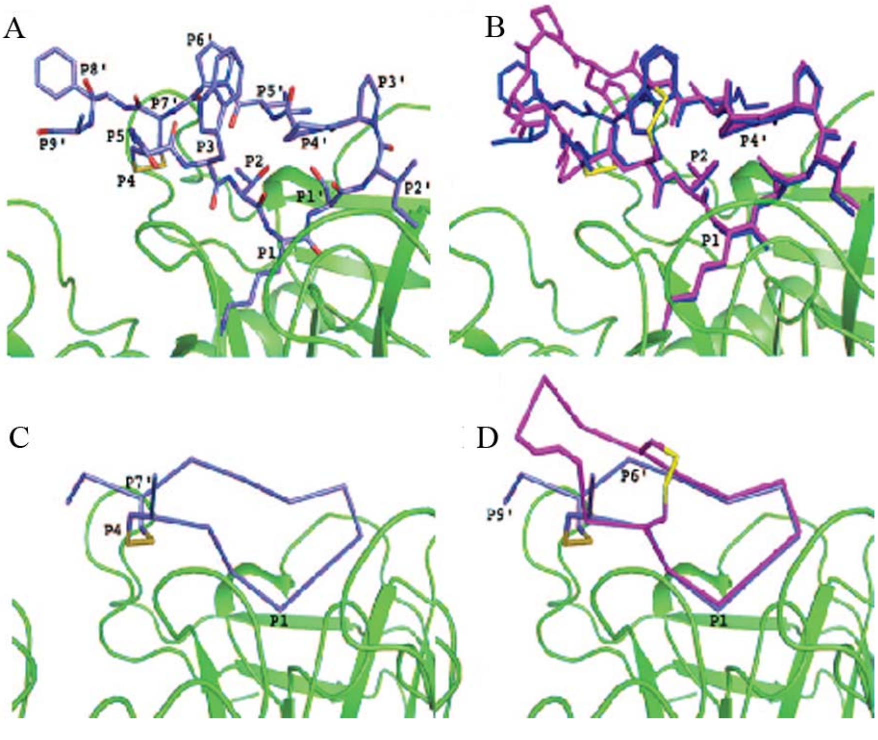


图 3　以蛋白酶抑制剂为模板设计同时拥有抗菌活性和蛋白酶抑制剂活性的新型药物前体化合物-胰蛋白酶结构(Li et al, 2007b)

Fig. 3　Sturcture of trypsin with a novel drug precursor designed on the basis of trypsin inhibitory loop, which has bifunction of antimicrobial peptide and serine protease inhibitor(Li et al, 2007b)

共同表达(Lai et al, 2001)。Bombinainin M 对豚鼠回肠肌有收缩活性。而 Bombinainin M 的变异体只对平滑肌有收缩活性。与 Bombinainin 结构类似的物质也在其他两栖类中发现(Zhou et al, 2006; Li et al, 2007c；Liang et al, 2006; Liu et al, 2008; Liu et al, 2008)。

铃蟾肽的研究导致了哺乳类类似物促胃酸分泌释放肽(GAP)和神经调节素 B 的发现。从大蹼铃蟾皮肤分泌物种分离到一个富含脯氨酸的铃蟾肽 RP-bombesin (Lai et al, 2002f, g)。它对鼠胃底组织肌肉条有收缩活性，还具有抗菌活性(Li et al, 2006)。根据大蹼铃蟾皮肤 cDNA 人工合成的 bombesin-GAP 对鼠胃肌肉条具有收缩活性。对 RP-bombesin 和 bombesin-GAP 的 cDNA 研究表明，它们的表达是受到精确调控的。

另外，还从大蹼铃蟾皮肤分泌物中得到对子宫肌肉有收缩活性的神经肽调节素 U 类似物(Lee et al, 2005d)和可促进内皮细胞分裂的 Bv8 肽类似物(Lai et al, 2003b)。与上述结构类似的物质也在其它两栖类中发现(Zhou et al, 2006; Li et al, 2007c；Liang et al, 2006; Liu et al, 2008; Liu et al, 2008)。

2.5 新型皮肤抗氧化系统

以前已经发现了两套抗氧化系统：一套是由小分子有机物组成，如维生素；另外一套是由抗氧化酶组成，如超氧化物歧化酶。还没有发现由专一基因编码的分泌型多肽抗氧化系统。利用高原生活的两栖动物为研究模型，研究强紫外线和长日照时间环境下生活的滇蛙皮肤的抗氧化能力及其机制，发现了大量的抗氧化多肽。这些多肽由专门的基因编码，具有快速和强大的氧化自由基清除能力，在体外可以在 10 s 以内清除 90%以上的氧化自由基，如 ABTS、DPPH。在两栖动物皮肤发现的多肽抗氧化系统被命名为第三套抗氧化系统，对于皮肤保护、衰老，以及自由基清除研究与应用具有重要意义(Yang et al, 2009)。

2.6 单链三叶因子

三叶因子蛋白主要分布在胃肠道上皮和两栖动物皮肤表面。许多研究表明，该家族的蛋白，在黏膜保护、损伤修复和肿瘤抑制中具有重要作用，但是自从发现以来，三叶因子蛋白译制作为孤儿配基存在，对其作用机制了解得很少。大蹼铃蟾(*Bombina maxima)*皮肤分泌物中具有一个含两个 TFF 结构域的三叶因子 Bm-TFF2。利用 Bm-TFF2 对人血小板的活化活性，首次揭示三叶因子与 PARs 类受体的相互作用，以及 prohibitins 在血小板膜上的表达及在血小板活化中的功能性作用，有助于阐明哺乳动物三叶因子的受体和分子作用机制。利用 Bm-TFF2 作为分子探针，对于揭示血小板膜脂筏和骨架上 PAR1 和 PHBs 的相互作用关系，对偶连信号通路的调节作用，及其在血小板生理病理中的作用机制将有重要意义，同时对于针对心血管疾病的新药物作用靶点和药物先导结构的发现与确立具有重要的实际意义(Zhang, 2009)。

2.7 非晶状体 βγ 晶状体蛋白–三叶因子复合物

非晶状体-晶状体蛋白在脊椎动物中以一簇基因家族的形式存在，在各种上皮细胞中广泛表达，但对其在体内承担的功能，人们一无所知。在大蹼铃蟾皮肤分泌物中分离到一种由上述两个家族的蛋白组成的复合物：非晶状体 βγ 晶状体蛋白-三叶因子复合物(βγ-CAT)(Liu et al, 2008a)。βγ-CAT 对小鼠、大鼠和兔有致死活性。离体心脏灌实验表明，导致兔死亡的原因归结为内皮依赖的急性心力衰竭，内皮释放细胞因子(如 TNF-α)作用于心肌细胞，从而导致收缩能力降低，可部分解释其引起心力衰竭的原因(Qian et al, 2008a, b)。高剂量的 βγ-CAT 可以引起一些细胞的凋亡(He et al, 2008)，而低剂量下能促进细胞的迁移，诱导伤口修复。βγ-CAT 由囊泡化而进入细胞并调节基因的转录(Liu et al, 2008a)。βγ-CAT 作为一类全新的非晶状体 βγ-晶状体蛋白和三叶因子以非共价键连接而成的天然形式存在的蛋白分子，根据现有文献资料，在国内外还是首次(Liu et al, 2008b)。根据实验进展，张云博士对两栖类动物 βγ-CAT 和单链三叶因子 Bm-TFF2 在哺乳类动物中的作用靶点和分子作用机制提出如图 4 所示的科学假设，为解析非晶状体 βγ-crystallins 和 TFFs 的生物学功能和分子机制与 PAR 和 PHB 家族蛋白的作用关系，以及它们所整合的细胞调节通路在生理病理中的作用位置提供了全新途径和可行性。

2.8 离子通道毒素

许多由基因编码的神经毒素已经在鱼类、爬行类和哺乳类动物中被发现。首次从树蛙(*Hyla annectans*) 皮肤分泌物中分离到作用于河豚毒素敏感的钠通道的神经毒素 anntoxin。这是从两栖动物首次发现基因编码的离子通道毒素。Anntoxin 和

Kunitz 型毒素有很高的序列相似性， 但是只含有 2～3 个保守的二硫键。除了离子通道活性，它还具有胰蛋白酶抑制剂活性。Annatoxin 在树蛙的多个器官和组织中表达，对昆虫、蛇、鸟和鼠等有很强的致死活性，对于其防御天敌可能有重要作用(You et al, 2009)。

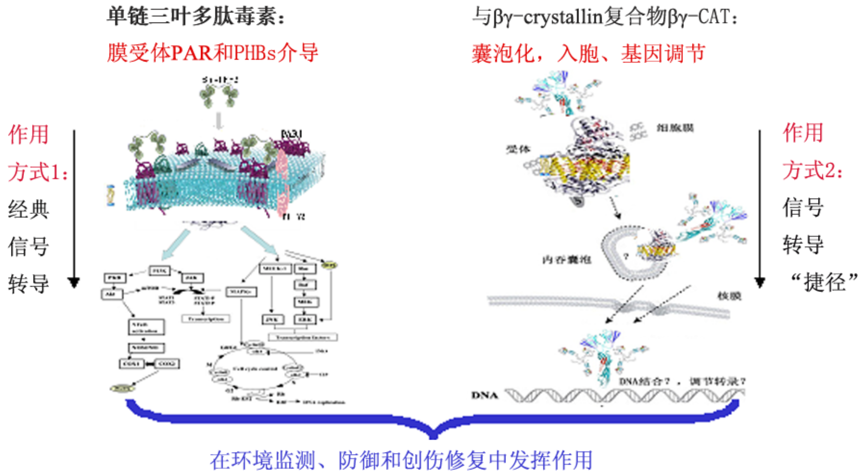


图 4　两栖类动物βγ-CAT 和单链三叶因子 Bm-TFF2 作用靶点和分子作用机制假设
Fig. 4　Targets and hypothesis on molecular mechanism of amphibian βγ-CAT and signal-chain trefoil factor Bm-TFF2

2.9　新型凝集素

它具有专一的糖基结合特性，生物体不同的器官与组织含有不同的糖基，因此凝集素可以专一地与不同的器官或组织相结合，它们一直被认为是最好的药物靶向输送和定位载体。科研人员一直在寻找合适的凝集素药物输送载体分子，但绝大部分已知的凝集素相对分子质量都大于 $1.0×10^4$，作为药物靶向输送和定位载体将可能导致毒性和免疫原性等副作用。较小相对分子质量凝集素将克服这些缺陷而作为理想的药物输送载体分子。我们与上海药物所和复旦大学合作从药用两栖动物(*Odorrana grahami*)中发现一相对分子质量仅为 1 700 的多肽凝集素，可以专一地与岩藻糖结合，体内专一地结合于肝和肺，且无毒性和具极低的免疫原性。此外，该多肽凝集素由分子内二硫键形成环状结构使其在生物体内不易受到蛋白酶水解而具有较好的稳定性，在小鼠体内半衰期>5 小时(Li et al, 2008b)。这些特性使该多肽凝集素成为优秀的药物靶向输送和定位候选载体分子。

3　节肢动物分泌物

3.1　吸血蜱分泌物

对于人类，蜱是仅次于蚊子的第二大类病原传播媒介，同时他们还是动物种间病原传播的最主要的节肢动物。为了能顺利地完成其饱血的过程，蜱利用各种抗凝血因子，如血管扩张因子、血小板凝集抑制剂及抗凝物质等来逃避宿主的血液凝集反应。除此之外，蜱还有一套有效的机制来逃避宿主的防御反应。到目前为止，已发现蜱能够产生前列肽腺素、抗凝因子、免疫抑制剂、抗炎症蛋白和抗菌肽等来克服宿主的防御反应，同时保持血液的清洁，并抑制其在蜱肠道中的凝集。

3.1.1　凝血酶抑制剂　从硬蜱(*Amblyomma hebraeum*)中鉴定了一个新的凝血酶抑制剂 Amblin。它的 cDNA 编码一个长 166 个氨基酸的前肽，包含一个信号肽区域和和成熟肽区域。成熟的 Amblin 含有 14 个半胱氨酸和两个 Kunitz 样结构域。重组的 Amblin 可以和天然 Amblin 一样抑制凝血酶的活性 (Lai et al, 2004b)。

3.1.2　阿片肽类似物　从中华硬蜱神经节中分离出两种神经肽 a 和 b。热板实验结果表明，神经肽 a 具有很强的镇痛活性，并且其镇痛作用随其剂量递增而增强；神经肽 b 有一定的肌舒张活性。这些神经肽可能参与硬蜱下调宿主防御反应的过程。该阿片肽类似物为首次得到的蜱类神经肽(Li et al, 2006; Liang et al, 2005)。

3.1.3　免疫抑制剂　从硬蜱(*Hyalomma asiaticum asiaticum*)中分离得到一种 B-细胞抑制因子(BIF)。它的 cDNA 编码一个长 138 个氨基酸的蛋白。在蛋白库中比对，没有发现它的类似物。它可以抑制 B 淋巴细胞的增殖。这是第一个蜱类 B-淋巴细胞抑制剂(Yu et al, 2006a)。

3.1.4 抗菌肽 我们与英国利物浦大学合作从硬蜱(*Hyalomma asiaticum asiaticum*)中分离得到两个酸性defensin样抗菌肽。蜱defensin1 样蛋白对格兰仕阳性和阴性细菌都有作用。它的基因表达调控研究表明，进食后defensin1 的表达会上调(Lai et al, 2004c)。从另一种硬蜱(*Amblyomma hebraeum*)纯化到一个相对分子质量为 1.1×10^4的抗菌肽hebraein。它由 102 个氨基酸组成，含有 6 个半胱氨酸和C端HX重复结构。它的结构和已知蛋白没有同源性。和已知的抗菌肽不同，它的二级结构含大量α螺旋和一个短的C端片断。吸血后，它的表达量也会上调(Lai et al, 2004d)。类似活性的多肽也在其他蜱中得到(Yu et al, 2006b)。

3.2 牛虻与其宿主相互作用的分子机制

在长期的与宿主相互作用进化过程中，吸血节肢动物唾液腺形成了一系列有助于适应吸血生存的活性物质，如血管舒张分子、抗凝血分子和免疫抑制分子。虻科昆虫是重要的病原媒介生物、农牧业害虫，其与宿主相互作用的分子机制在世界范围内还未见报道。仅少数文献报道了牛虻唾液腺具有抗凝血活性。此外，牛虻作为重要的抗血栓传统中药在中国已被广泛接受和应用，但发挥抗血栓功能的物质基础还不知道。

为解读牛虻与其宿主相互作用的分子机制，采用生物化学、蛋白质组学和药理学相结合的研究手段，对牛虻唾液腺中的生物活性物质进行了较全面的研究。从牛虻唾液腺中获得了新型抗血小板集聚因子、新型免疫抑制剂多肽、凝血酶抑制剂、抗凝血的丝氨基酸蛋白酶、纤维蛋白原水解酶、三个家族的抗菌肽、透明质酸酶、血管舒张因子、抗氧化的金属硫蛋白等九大类生物活性物质，为生物防治牛虻提供了大量的作用靶标，为设计安全有效的防治牛虻用药物和疫苗提供了基础。这些活性物质主要作用于宿主的心血管系统和免疫系统，发挥抗血液凝固、抗血栓和抗免疫排斥反应等作用(Xu et al, 2008a, b; Yan et al, 2008; Ma et al, 2009; Ma et al, 2010)。该研究部分揭示了虻虫(牛虻的中药材名)作为重要传统抗血栓中药的分子机制，发现了多种具有潜在药用价值的先导结构分子，也部分揭示了牛虻从其宿主获得血液的分子药理机制。

4 有毒动物防治和动物毒素的利用

人类对动物毒素的认识，伴随着有毒动物中毒，而毒素的研究也为有毒动物的防治提供了理论基础。目前，已经有很多针对不同有毒动物毒素的抗血清。除了抗血清之外，70 年代发明的糜-胰蛋白酶治疗毒蛇咬伤一直在我国普遍运用(Xiong et al, 1975; Xiong et al, 1979a; Xiong et al, 1983; Xiong et al, 1994)。通常，一种抗血清之能针对特定的有毒动物咬伤，而蛋白酶治疗蛇伤具有广谱性，即可以治疗多种有毒动物咬伤。另外，在我国传统中药治疗毒蛇咬伤的基础上，开发了云南蛇药(Xiong et al, 1979b)。

动物毒素用于新药发现和利用，已展现出强大的应用价值和经济与社会效益。目前，已有 40 余种多肽毒素商品化；至少有 10 种以上动物多肽毒素成为临床应用的新药，如美国 FDA 分别于 2004 年和 2005 年批准了具有极大市场前景的镇痛新药 Ziconotide(商品名 Prialt)和治疗 II 型糖尿病新药 Exenatide(商品名 Byetta)，它们分别是来源于芋螺和蜥蜴的多肽毒素。此外，至少有 30 种以上动物多肽毒素进入临床实验或临床前实验阶段，极有可能成为又一批动物多肽毒素新药。昆明动物所熊郁良小组首先研究的眼镜蛇毒神经毒已经运用到疼痛治疗上(Xu et al, 1999a; Yang et al, 1999)。在 20 世纪 80 年代“克痛宁”(科博肽)注射液研制的基础上，熊郁良小组开发的口服镇痛药“克洛曲”于 1998 年获得国家新药证书和新药生产批文。来源于五步蛇的“去纤酶”也从基础研究走向了临床运用(Yang et al, 1982; Collaborative Group of Defibrase, 1982)。

5 展 望

30 年来，中国科学院昆明动物所在几代科学家的努力下，通过自身和与国内外科研机构和大学的合作，在国家自然科学基金委重点项目、国家 863 项目、国家新药研制重大专项、国家发改委产业化项目、中国科学院重要项目和云南省重点项目等等项目的资助下，在动物毒素研究领域取得了长足的进展。从 20 世纪 80 年代初首次全国蛇毒研究学术会议在昆明动物所召开，到 1996 年在昆明组织第四届亚洲－太平洋地区国际动植物微生物毒素会议，再到 2006 年张云博士成为国际生物毒素学会会刊 *Toxicon* 的编委，昆明动物所动物毒素研究工作得到国内外同行的广泛认可，也走过了一个从单一成分到组学研究，从理化性质到人类疾病机理探索，从利用粗毒的中药制剂到单一组份的基于毒素

结构为模板而进行的理性药物设计的新药物研制的发展历程。目前动物毒素研究项目“我国特有产毒动物多肽毒素基础与应用基础研究”于 2009 年首次获得了国家重点基础研究发展计划“973”项目的支持。动物毒素研究面临着全新的机遇和挑战。

5.1　动物毒素资源的挖掘和保护

加强对中国特有有毒动物类资源的调查与保护。大力加强宣传、认真执行《野生动物保护法》，加强有毒动物及其生存环境的保护，对资源量较少的种类应设立专门的自然保护区。对有毒动物的生态习性、繁殖规律、资源量和可更新能力进行调查研究。建立养殖基地，开展对珍稀、濒危有毒动物的人工养殖、放养等。在资源调查的基础上，建立和完善动物毒素资源库(毒素基因文库，多肽毒素组学库，有毒动物种质资源库等)与数据库。同时要注意知识产权的保护。这些工作对有毒动物的防治与有毒动物资源的保护、开发和可持续利用有着深远的意义。

5.2　科学问题

随着人类基因组的解析，越来越多的孤儿配基、孤儿配体被发现。由于理论知识和研究方法的限制，对他们的功能和作用机制研究难于突破。自然界上亿年的“加速进化选择”赋予了动物毒素高活力、高专一性和多样性。它们可以作用于人体的多种器官和组织。它们的分子结构和很多人类分子具有同源性。由于这些原因，动物毒素成为研究人类生理病理机制的良好工具、模型和线索。例如，乙酰胆碱受体的确立，神经生长因子的发现，离子通道理论的建立，血小板膜 GPVI 等新受体的发现，都是动物毒素在这方面运用的例子。

动物毒素研究的问题大致可分为两类。一类是毒素分子本身的研究。揭示毒素分子的新结构、新功能、多样性、进化和适应性机制。另一类是以毒素蛋白特殊的功能揭示人类自身的生理病理机制。基于对动物毒素研究长期的工作积累，紧紧围绕动物毒素最终服务于“人口与健康”的方向，瞄准国际学术前沿，根据动物毒素作用于非膜蛋白分子靶点、细胞膜通道和受体的普遍性特征，该领域拟解决关键科学问题为：动物毒素与非膜蛋白分子靶点、细胞膜通道及受体的相互作用机制。围绕这一关键科学问题，着重解决突出问题：(1) 产毒动物毒素的结构与功能关系；(2) 动物毒素与非膜蛋白分子靶点、细胞膜通道及受体相互作用的分子机制；(3) 具有重要药用前景的动物多肽毒素的应用基础。

动物毒素目前及今后的研究工作将针对上述关键科学问题，从动物毒素的多样性与结构特征、非膜蛋白分子靶点和细胞膜通道及受体的选择性、动物毒素与膜通道及受体相互作用、动物毒素应用基础 4 个层面上，集中针对(1)动物毒素的分子多样性与结构特征；(2)动物毒素与非膜蛋白分子靶点，细胞膜通道及受体的选择性作用；(3)动物毒素与非膜蛋白分子靶点，细胞膜通道及受体的相互作用机制；(4)具有重要药用前景的动物毒素的临床应用基础 4 个主要研究内容开展深入研究。形成在后基因组时代以动物毒素功能为基础、以解析重大疾病发病机理，发现新药物作用靶点和创制动物毒素药物为导向的创新药物研发网络体系和平台，促进生物医学基础研究和生物医药产业的发展。

5.3　研究手段和方法

动物毒素的研究已经发展成为一个多学科交叉的领域，它的研究方法和手段也多种多样。包含了生物信息学技术、结构测定、蛋白质组学技术、电生理技术、分子生物学与生物化学、细胞生物学、动物行为学和模式动物模型、药效学/药动学/药剂学等。在动物毒素研究中，要特别注意研究的系统性、延续性和延伸性。

5.4　动物毒素药物开发

近年来国际生物医药界之所以高度关注动物毒素，首先，是因为动物毒素的作用靶标多为细胞膜通道及受体，而膜通道及受体的变异与功能调制失常则是导致许多人类疾病的根源，如心脏病、高血压、糖尿病、癫痫、肿瘤等重大疾病都与膜通道及受体突变或功能性失调密切相关；其次，与其它生物活性物质比较，动物毒素具有以下三个显著特点：(1) 自然界上亿年的“加速进化选择”赋予动物毒素具有高活力和高专一性；(2) 在协同进化驱使下，动物毒素广泛存在多拷贝基因家族和高进化速率，从而呈现惊人的分子多样性；(3) 差异的生态环境使不同地域动物毒素具有功能和结构的特殊性。在地域广阔和生态复杂的我国，动物毒素的上述特点使其在竞争激烈的新药研发中成为不可替代的天然药物资源。

动物毒素的利用，特别是新药研究中，要着眼于有重要药用前景的动物毒素新的分子与肿瘤、心

血管疾病、神经系统疾病等重大疾病相关的膜通道及受体的相互作用机制，为动物毒素的临床应用奠定理论基础。阐明动物毒素结构与功能关系，为动物毒素的药用及设计改造提供科学根据。在现代生物技术的指导下，以独立的知识产权为依托，以明确的靶点为依据进行新药研究和开发。

参考文献：

Cai JX, Sun X, Yang CJ, Chen XL, Li CD, Zhao QK, Tian YF, Xiong YL. 1980. Column chromatography fractionation of *ophiophagus hannah* venom and study of neurotoxic peaks [J]. *Zool Res*, **1** (3): 319-325. [蔡景霞, 孙欣, 杨长久, 陈锡兰, 李朝达, 赵其昆, 田云芬, 熊郁良. 1980. 眼镜王蛇蛇毒的柱层析分离及神经毒组份的研究. 动物学研究, **1** (3): 319-325.]

Che Q, Zhou Y, Yang H, Li J, Xu X, Lai R. 2008. A novel antimicrobial peptide from amphibian skin secretions of *Odorrana grahami*. [J]. *Peptides,* **29** (4): 529-535.

Chen D, Cao R, Guo H, Chen G, Wang X, Shen S, Chen S. 2004a. Pathogenesis and pathology of delayed xenograft rejection in pig-to-rhesus monkey cardiac transplantation [J]. *Transplant Proc*, **36** (8): 2480-2482.

Chen G, Qian H, Starzl T, Sun H, Garcia B, Wang X, Wise Y, Liu Y, Xiang Y, Copeman L, Liu W, Jevnikar A, Wall W, Cooper DK, Murase N, Dai Y, Wang W, Xiong Y, White DJ, Zhong R. 2005. Acute rejection is associated with antibodies to non-Gal antigens in baboons using Gal-knockout pig kidneys [J]. *Nat Med*, **11** (12): 1295-1298.

Chen G, Sun QY, Wang XM, Shen SQ, Guo H, Wang H, Wu Y, Wang WY, Xiong YL, Chen S. 2004b. Improved suppression of circulating complement does not block acute vascular rejection of pig-to-rhesus monkey cardiac transplants [J]. *Xenotransplantation*, **11**(2): 123-132.

Chen L, Li Y, Li J, Xu X, Lai R, Zou Q. 2007. An antimicrobial peptide with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* [J]. *Peptides*, **28** (8): 1527-1531.

Chen RQ, Jin Y, Wu JB, Zhou XD, Li DS, Lu QM, Wang WY, Xiong YL. 2004. A novel high molecular weight metalloproteinase cleaves fragment F1 of activated human prothrombin [J]. *Toxicon*, **44**(3): 281-287.

Chen RQ, Jin Y, Wu JB, Zhou XD, Lu QM, Wang WY, Xiong YL. 2003. A new protein structure of P-II class snake venom metalloproteinases: it comprises metalloproteinase and disintegrin domains [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **310** (1): 182-187.

Cheng Y, Meng Q, Wang W, Wang J. 2002. Structure-function relationship of three neurotoxins from the venom of *Naja kaouthia*: a comparison between the NMR-derived structure of NT2 with its homologues, NT1 and NT3 [J]. *Biochim Biophys Acta*, **1594** (2): 353-363.

Collaborative Group of Defibrase. 1982. Treatment of vascular obstruction by defibrase: A clinical report of 333 cases [J]. *Chn Med J*, **62** : 324-327. [去纤酶临床协作组. 1982. 去纤酶治疗闭塞性血管病 333 例临床报告. 中华医学杂志, **62**: 324-327]

Gao R, Zhang Y, Meng QX, Lee WH, Li DS, Xiong YL, Wang WY. 1998. Characterization of three fibrinogenolytic enzymes from Chinese green tree viper (*Trimeresurus stejnegeri*) venom [J]. *Toxicon*, **36** (3): 457-67.

Guo XX, Zeng L, Lee WH, Zhang Y, Jin Y. 2007. Isolation and cloning of a metalloproteinase from king cobra snake venom [J]. *Toxicon*, **49**: 954-965.

Han Y, Yu H, Yang X, Rees HH, Liu J, Lai R. 2008b. A serine proteinase inhibitor from frog eggs with bacteriostatic activity [J]. *Comp Biochem Physiol B*, **149** (1): 58-62.

He LF, Xiao CH, Dong FM, Yang LX. 1990. Studies on the thrombin-like principles of *Agkistrodon acutus* venom II. Studies on Hemostatic effect of hemocoagulase [J]. *Zool Res*, **11** (4): 331-335. [何丽芬, 肖昌华, 董馥明, 杨连玺. 1990. 尖吻蝮(*Agkistrodon acutus*)蛇毒凝血酶样成分的研究: II. 蛇毒凝血酶止血效应的研究. 动物学研究, **11** (4): 331-335.]

He YY, Lee WH, Zhang Y. 2004. Cloning and purification of α-neurotoxins from *Ophiophagus hannah* venom [J]. *Toxicon*, **44**: 295-303.

He YY, Liu SB, Lee WH, Zhang Y. 2008. Melanoma cell growth inhibition by βγ-CAT, which is a novel non-lens betagamma-crystallin and trefoil factor complex from frog *Bombina maxima* skin [J]. *Toxicon*, **52**: 341-347.

Jia YH, Jin Y, Lu QM, Li DS, Wang WY, Xiong YL. 2003. Jerdonase, a novel serine protease with kinin-releasing and fibrinogenolytic activity from *Trimeresurus jerdonii* venom [J]. *Acta Biochim Biophy Sin*, **35** (8): 689-694.

Jin Y, Lu QM, Wei JF, Li DS, Wang WY, Xiong YL. 2001. Purification and characterization of jerdofibrase, a serine protease from the venom of *Trimeresurus jerdonii* snake [J]. *Toxicon*, **39** (8): 1203-1210.

Jin Y, Lu QM, Wang WY, Xiong YL. 2002. Actions of two serine proteases from *Trimeresurus jerdonii* venom on chromogenic substrates and fibrinogen [J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, **132** (3): 529-534.

Jin Y, Lu QM, Chen RQ, Wu JB, Xiong YL. 2005. Molecular characterization of a weak fibrinogen-clotting enzyme from *Trimeresurus jerdonii* venom [J]. *Toxicon*, **45** (3): 353-360.

Jin Y, Lee WH, Zhang Y. 2007a. Molecular cloning of serine proteases from elapid snake venoms [J]. *Toxicon*, **49**: 1200-1207.

Jin Y, Lee WH, Zeng L, Zhang Y. 2007b. Molecular characterization of L-amino acid oxidase from king cobra venom [J]. *Toxicon*, **50**: 479-489.

Lai R, Ye WJ, Ran YL, Lu SQ, Yang DT. 1998. Anti-microbial peptide from skin secretion of *Bombina maxima*. [J]. *Zool Res*, **19** (4): 257-262. [赖仞, 叶文娟, 冉永禄, 吕顺清, 杨大同. 1998. 大蹼铃蟾皮肤分泌液中抗菌活性肽的分离纯化及其性质. 动物学研究, **19** (4): 257-262.]

Lai R, Liu H, Lee WH, Zhang Y. 2001. A novel bradykinin-related peptide from skin secretions of toad *Bombina maxima* and its precursor containing six identical copies of the final product [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **286**: 259-263.

Lai R, Zhao Y, Yang DM, Zha HG, Lee WH, Zhang Y. 2002a. Comparative study of the biological activities of the skin secretions from six common Chinese amphibians [J]. *Zool Res*, **23** (2): 113-119. [赖 仞, 赵 宇, 杨东明, 查宏光, 李文辉, 张 云. 2002a. 六种常见两栖类动物皮肤分泌物的生物活性比较. 动物学研究, **23** (2): 113-119.]

Lai R, Zhao Y, Liu H, Zhang YJ, Lee, WH, Zhang Y. 2002b. Bioactive substance of amphibian skin and a study on exploitation and utilization of Chinese amphibian resources [J]. *Zool Res*, **23** (1): 65-70. [赖 仞, 赵 宇, 刘 衡, 张玉洁, 李文辉, 张 云. 2002b. 两栖类动物皮肤活性物质的利用兼论中国两栖类资源开发的策略. 动物学研究, **23** (1): 65-70.]

Lai R, Liu H, Hui Lee W, Zhang Y. 2002c. An anionic antimicrobial peptide from toad *Bombina maxima* [J]. *Biochem Biophy Res Commun*, **295** (4): 796-799.

Lai R, Zheng YT, Shen JH, Liu GJ, Liu H, Lee WH, Tang SZ, Zhang Y.

2002d. Antimicrobial peptides from skin secretions of Chinese red belly toad *Bombina maxima* [J]. *Peptides*, **23** (3): 427-435.

Lai R, Liu H, Lee WH, Zhang Y. 2002e. Identification and cloning of a trypsin inhibitor from skin secretions of Chinese red-belly toad *Bombina maxima* [J]. *Comp Biochem Physiol B*, **131** (1): 47-53.

Lai R, Liu H, Lee WH, Zhang Y. 2002f. A novel proline rich bombesin-related peptide (PR-bombesin) from toad *Bombina maxima* [J]. *Peptides*, **23** (3): 437-442.

Lai R, Liu H, Lee WH, Zhang Y. 2002g. A novel bombesin-like peptide from *Bombina maxima* [J]. *Peptides*, **23**: 437-442.

Lai R, Liu H, Lee WH, Zhang Y. 2003a. Bombinakinin M gene associated peptide, a novel bioactive peptide from skin secretions of the toad *Bombina maxima* [J]. *Peptides*, **24**: 199-204.

Lai R, Liu H, Lee WH, Zhang Y. 2003b. Two novel Bv8-like peptides from skin secretions of toad *Bombina maxima* [J]. *Comp Biochem Physiol B*, **134**: 509-514.

Lai R, Liang JG, Zhang Y. 2004a. Antimicrobial peptides in amphibian skins and their application [J]. *Zool Res*, **25** (5): 465-468. [赖　仞, 梁建国, 张　云. 2004a. 两栖类皮肤抗菌多肽及其应用. 动物学研究, **25** (5): 465-468.]

Lai R, Takeuchi H, Jonczy J, Rees HH, Turner PC. 2004b. A thrombin inhibitor from the ixodid tick, *Amblyomma hebraeum* [J]. *Gene*, **342** (2): 243-249.

Lai R, Lomas LO, Jonczy J, Turner PC, Rees HH. 2004c. Two novel non-cationic defensin-like antimicrobial peptides from haemolymph of the female tick, *Amblyomma hebraeum* [J]. *Biochem J*, **379** (Pt 3): 681-685.

Lai R, Takeuchi H, Lomas LO, Jonczy J, Rigden DJ, Rees HH, Turner PC. 2004d. A new type of antimicrobial protein with multiple histidines from the hard tick, *Amblyomma hebraeum* [J]. *FASEB J*, **18** (12): 1447-1449.

Lee WH, Zhang Y, Wang WY, Xiong YL. 1995. Isolation and properties of a blood coagulation factor X activator from the venom of King cobra [J]. *Toxicon*, **33**: 1263-1276.

Lee WH, Zhang Y. 2003. Research development of snake venom C—type lectins. [J]. *Zool Res*, **24** (2): 151-160. [李文辉, 张　云. 2003. 蛇毒C-型凝集素研究进展. 动物学研究, **24** (2): 151-160.]

Lee WH, Zhang Y. 2003a. Molecular cloning and characterization of a platelet glycoprotein Ib-binding protein from the venom of *Trimeresurus stejnegeri* [J]. *Toxicon*, **41**: 885-892.

Lee WH, Zhuang QY, Zhang Y. 2003b. Cloning and characterization of a blood coagulation factor IX-binding protein from the venom of *Trimeresurus stejnegeri* [J]. *Toxicon*, **41** (7): 765-772.

Lee WH, Du XY, Lu QM, Clemetson KJ, Zhang Y. 2003c. Stejnulxin, a novel snake C-type lectin-like protein from *Trimeresurus stejnegeri* venom is a potent platelet agonist acting specifically via GPVI [J]. *Thromb Haemost*, **90** (4): 662-671.

Lee WH, Gao R, Zhang Y. 2003d. Molecular cloning and sequence comparison of serine proteases from the venom of *Trimeresurus stejnegeri* [J]. *Zool Res*, **24** (3): 180-185. [李文辉, 高　荣, 张　云. 2003d. 竹叶青蛇毒丝氨酸蛋白酶的分子克隆和序列比较. 动物学研究, **24** (3): 180-185.]

Lee WH, Li Y, Lai R, Li S, Zhang Y, Wang W. 2005a. Variety of antimicrobial peptides in the *Bombina maxima* toad and evidence of their rapid diversification [J]. *Eur J Immunol*, **35** (4): 1220-1229.

Lee WH, Zhang J, Zhang YX, Jin Y, Lai R, Zhang Y. 2005b. Maximin 9, a novel free thiol containing antimicrobial peptide with antimycoplasma activity from frog *Bombina maxima* [J]. *FEBS Lett*, **57** (20): 4443-4448.

Lee WH, Liu SB, Shen JH, Jin Y, Zhang Y. 2005c. Cloning of bradykinin precursor cDNAs from skin of *Bombina maxima* reveals novel bombinakinin M antagonists and a bradykinin potential peptide [J]. *Regul Pept*, **127**: 207-215.

Lee WH, Liu SB, Shen JH, Jin Y, Lai R, Zhang Y. 2005d. Identification and molecular cloning of a novel neuromedin U analog from the skin secretions of toad *Bombina maxima* [J]. *Regul Pept*, **129** (1-3): 43-47.

Li J, Xu X, Yu H, Yang H, Huang Z, Lai R. 2006a. Direct antimicrobial activities of PR-bombesin [J]. *Life Sci*, **17**: 1953-1956.

Li JX, Liu TG, Xu XQ, Liu ZG, Lai R. 2006b. Two novel opioid peptides from synganglia of hard tick [J]. *Chn Sci Bull*, **51**: 2501-2504. [李建许, 刘彤光, 杨海龙, 徐学清, 刘志刚, 赖　仞. 2006b. 从中华硬蜱神经节中分离出两种神经肽. 科学通报, **51**: 2501-2504.]

Li J, Xu X, Xu C, Zhou W, Zhang K, Yu H, Zhang Y, Zheng Y, Rees HH, Lai R, Yang D, Wu J. 2007a. Anti-infection peptidomics of amphibian skin [J]. *Mol Cell Proteomics*, **6** (5): 882-94.

Li J, Zhang C, Xu X, Wang J, Yu H, Lai R, Gong W. 2007b. Trypsin inhibitory loop is an excellent lead structure to design serine protease inhibitors and antimicrobial peptides [J]. *FASEB J*, **21** (10): 2466-2473.

Li J, Yu H, Xu X, Wang X, Liu D, Lai R. 2007c. Multiple bombesin-like peptides with opposite functions from skin of *Odorrana grahami* [J]. *Genomics*, **89** (3): 413-418.

Li J, Wu J, Wang Y, Xu X, Liu T, Lai R, Zhu H. 2008a. A small trypsin inhibitor from the frog of *Odorrana grahami* [J]. *Biochimie*, **90**(9): 1356-1361.

Li J, Wu H, Hong J, Xu X, Yang H, Wu B, Wang Y, Zhu J, Lai R, Jiang X, Lin D, Prescott MC, Rees HH. 2008b. Odorranalectin is a small peptide lectin with potential for drug delivery and targeting [J]. *PLoS ONE*, **3** (6): e2381.

Li R, Zhu S, Wu J, Wang W, Lu Q, Clemetson KJ. 2008. L-amino acid oxidase from *Naja atra* venom activates and binds to human platelets [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, **40** (1): 19-26.

Liang JG, Zhang J, Lai R, Rees HH. 2005. An opioid peptide from synganglia of the tick, *Amblyomma testindinarium* [J]. *Peptides*, **26** (4): 603-606.

Liang J, Han Y, Li J, Xu X, Rees HH, Lai R. 2006. A novel bradykinin-like peptide from skin secretions of rufous-spotted torrent frog, *Amolops loloensis* [J]. *Peptides*, **27** (11): 2683-2687.

Liu LK, Xiong YL. 1990. Studies on enzymic properties of the thrombin-like enzymes from *Trimeresurus stejnegeri* venom [J]. *Zool Res*, **11** (3): 253-257. [刘念昆, 熊郁良. 1990. 竹叶青(*Trimeresurus stejnegeri*)蛇毒凝血酶样酶的酶学性质研究. 动物学研究, **11** (3): 253-257.]

Liu SB, He YY, Zhang Y, Lee WH, Qian JQ, Lai R, Jin Y. 2008a. A novel non-lens betagamma-crystallin and trefoil factor complex from amphibian skin and its functional implications [J]. *PLoS ONE*, **3** (3): e1770.

Liu SB, He YY, Qian JQ, Lee WH, Zhang Y. 2008b. Research Progression of Non-lens βγ-crystallins [J]. *Zool Res*, **29** (6): 679-688. [刘树柏, 何英英, 钱金桥, 李文辉, 张　云. 2008b. 非晶状体 βγ-晶状体蛋白的研究进展. 动物学研究, **29** (6): 679-688.]

Liu X, You D, Chen L, Wang X, Zhang K, Lai R. 2008c. A novel bradykinin-like peptide from skin secretions of the frog, *Rana nigrovittata* [J]. *J Pept Sci*, **14** (5): 626-630.

Lu QM, Jin Y, Li DS, Wang WY, Xiong YL. 2000. Characterization of a thrombin-like enzyme from the venom of *Trimeresurus jerdonii* [J]. *Toxicon*, **38** (9): 1225-1236.

Lu QM, Meng QX, Li DS, Zhu SW, Jia WH, Xiong YL, Wang WY. 2002a. Comparative study of three short-chain neurotoxins from the venom of *Naja kaouthia* (Yunnan, China) [J]. *J Nat Toxins*, **11** (3): 221-229.

Lu QM, Wei Q, Jin Y, Wei JF, Wang WY, Xiong YL. 2002b. L-amino acid oxidase from *Trimeresurus jerdonii* snake venom: purification, characterization, platelet aggregation-inducing and antibacterial effects

[J]. *J Nat Toxins*, **11** (4): 345-352.

Lu QM, Navdaev A, Clemetson JM, Clemetson KJ. 2004. GPIb is involved in platelet aggregation induced by mucetin, a snake C-type lectin protein from Chinese habu (*Trimeresurus mucrosquamatus*) venom [J]. *Thromb Haemost*, **91**(6): 1168-1176.

Lu QM, Clemetson JM, Clemetson KJ. 2005a. Snake venoms and hemostasis [J]. *J Thromb Haemost*, **3**(8): 1791-1799.

Lu QM, Navdaev A, Clemetson JM, Clemetson KJ. 2005b. Snake venom C-type lectins interacting with platelet receptors. Structure-function relationships and effects on haemostasis [J]. *Toxicon*, **45** (8): 1089-1098.

Lu Q, Clemetson JM, Clemetson KJ. 2005c. Translocation of GPIb and Fcγ receptor gamma-chain to cytoskeleton in mucetin-activated platelets [J]. *J Thromb Haemost*, **3**(9): 2065-2076.

Lu Y, Ma Y, Wang X, Liang J, Zhang C, Zhang K, Lin G, Lai R. 2008a. The first antimicrobial peptide from sea amphibian [J]. *Mol Immunol*, **45** (3): 678-681.

Lu X, Ma Y, Wu J, Lai R. 2008b. Two serine protease inhibitors from the skin secretions of the toad, *Bombina microdeladigitora* [J]. *Comp Biochem Physiol B*, **149** (4): 608-612.

Lu Y, Li J, Yu H, Xu X, Liang J, Tian Y, Ma D, Lin G, Huang G, Lai R. 2006. Two families of antimicrobial peptides with multiple functions from skin of rufous-spotted torrent frog, *Amolops loloensis* [J]. *Peptides*, **27** (12): 3085-3091.

Ma D, Wang Y, An S, Lai R. 2010. A horsefly saliva antigen 5-like protein containing RTS motif is an angiogenesis inhibitor [J]. *Toxicon*, **55** (1): 45-51.

Ma D, Wang Y, Yang H, Wu J, An S, Gao L, Xu X, Lai R. 2009. Anti-thrombosis repertoire of blood-feeding horsefly salivary glands [J]. *Mol Cell Proteomics*, **8** (9): 2071-2079.

Meng QX, Wang WY, Lu QM, Jin Y, Wei JF, Zhu SW, Xiong YL. 2002. A novel short neurotoxin, cobrotoxin c, from monocellate cobra (*Naja kaouthia*) venom: isolation and purification, primary and secondary structure determination, and tertiary structure modeling [J]. *Comp Biochem Physiol C*: *Toxicol Pharmacol*, **132** (1): 113-121.

Parry MA, Jacob U, Huber R, Wisner A, Bon C, Bode W. 1998. The crystal structure of the novel snake venom plasminogen activator TSV-PA: a prototype structure for snake venom serine proteinases [J]. *Structure*, **16** (9): 1195-1206.

Qian JQ, Liu SB, He YY, Lee WH, Zhang Y. 2008a. Acute toxicity of betagamma-CAT, a naturally existing non-lens βγ-crystallin and trefoil factor complex from frog *Bombina maxima* skin secretions [J]. *Toxicon*, **52**: 22-31.

Qian JQ, Liu SB, He YY, Lee WH, Zhang Y. 2008b. betagamma-CAT, a non-lens βγ-crystallin and trefoil factor complex from amphibian skin secretions, caused endothelium-dependent myocardial depression in isolated rabbit hearts [J]. *Toxicon*, **52**: 285-292.

Ran YL, Tu A. 1987. Studies on purification and characterization of hemorrhagic toxins from *Lachesis muta* venom [J]. *Zool Res*, **8** (4): 365-373. [冉永禄, Anthony Tu. 1987. 巨蝮蛇(*Lachesis muta*)毒出血毒素的纯化和性质研究. 动物学研究, **8** (4): 365-373.]

Ran YL, Tao Y, Ye WJ. 1994. Biochemical properties and conformation in liquid on two hemorrhagic toxins from the venom of *Deinagkistrodon acutus* from Hunan [J]. *Zool Res*, **15** (zk): 173-118. [冉永禄, 陶 勇, 叶文娟. 1994. 湖南产尖吻蝮蛇蛇毒出血毒素性质和溶液构象的研究. 动物学研究, **15** (zk): 173-118.]

Sanz L, Chen RQ, Pérez A, Hilario R, Juárez P, Marcinkiewicz C, Monleón D, Celda B, Xiong YL, Pérez-Payá E, Calvete JJ. 2005. cDNA cloning and functional expression of jerdostatin, a novel RTS-disintegrin from *Trimeresurus jerdonii* and a specific antagonist of the $\alpha_1\beta_1$ integrin [J]. *J Biol Chem*, **280** (49): 40714-40722.

Shen JH, Liu SB, Zhang YX, Jin Y, Lee WH, Zhang Y. 2005. Cloning of novel bombesin precursor cDNAs from skin of *Bombina maxima* [J]. *Regul Pept*, **132**: 102-106.

Song Y, Lu Y, Wang L, Yang H, Zhang K, Lai R. 2009. Purification, characterization and cloning of two novel tigerinin-like peptides from skin secretions of *Fejervarya cancrivora* [J]. *Peptides*, **30** (7): 1228-1232.

Sun QY, Lu QM, Wang WY, Xiong YL. 2001. A highly active anticomplement factor from the venom of *Naja kaouthia* [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, **33** (5): 483-488.

Sun QY, Chen G, Guo H, Chen S, Wang WY, Xiong YL. 2003. Prolonged cardiac xenograft survival in guinea pig-to-rat model by a highly active cobra venom factor [J]. *Toxicon*, **42**(3): 257-262.

Tai H, Wei Q, Jin Y, Su M, Song JX, Zhou XD, Ouyang HM, Wang WY, Xiong YL, Zhang Y. 2004. TMVA, a snake C-type lectin-like protein from *Trimeresurus mucrosquamatus* venom, activates platelet via GPIb [J]. *Toxicon*, **44** (6): 649-656.

The Forth Lab of Yunnan Institute of Zoology. 1976. Assay of the enzymatic activities of venoms of several Chinese snakes [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, **8**(2): 151-156. [云南省动物研究所第四室. 1976. 我国几种常见毒蛇的蛇毒酶活力测定. 生物化学与生物物理学报, **8**(2): 151-156.]

Tu GC, Ye WJ, Cao QN, Ran YL, Cheng DW, Zhang W, Ruan CG. 1985. Study on anticoagulant mechanism of an anticougulation principle of *Agkistrodon halys pallas* venom from Zhejiang province [J]. *Zool Res*, **6** (3): 293-301.[涂光俦, 叶文娟, 曹庆娜, 冉永禄, 程大卫, 张 威, 阮长庚. 1985. 浙江产蝮蛇(*Agkistrodon halys Pallas*)蛇毒抗凝血活酶组份抗凝机理的研究. 动物学研究, **6**(3): 293-301.]

Wan SG, Jin Y, Lee WH, Zhang Y. 2006a. A snake venom metalloproteinase that inhibited cell proliferation and induced morphological changes of ECV304 cells [J]. *Toxicon*, **47**: 480-489.

Wan SG, Jin Y, Lee WH, Zhang Y. 2006b. loning of two novel P-III class metalloproteinases from *Trimeresurus stejnegeri* venom gland [J]. *Toxicon*, **47**: 465-472.

Wang A, Wang J, Hong J, Feng H, Yang H, Yu X, Ma Y, Lai R. 2008a. novel family of antimicrobial peptides from the skin of *Amolops loloensis* [J]. *Biochimie*, **90**(6): 863-867.

Wang Y, Hong J, Liu X, Yang H, Liu R, Wu J, Wang A, Lin D, Lai R. 2008b. Snake cathelicidin from *Bungarus fasciatus* is a potent peptide antibiotics [J]. *PLoS ONE*, **3**(9): e3217.

Wang T, Zhang J, Shen JH, Jin Y, Lee WH, Zhang Y. 2005. Maximins S, a novel group of antimicrobial peptides from toad *Bombina maxima* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **327**: 945-951.

Wang WY, Lu QM, Zhang Y, Meng QX. 1998. Cobra (*Naja naja atra*) membrane toxin isoforms: structure and function [J]. *J Toxicol:Toxin Review*, **17**: 525-532.

Wang WY, Xiong YL, Yang CJ, Chang HJ, Xiao CH, Chen XL, Tian YF. 1982. The effect of the defibrase of *Agkistrodon acutus* venom on blood coagulation system in rabbits both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Zool Res*, **3**(2): 145-152. [王婉瑜, 熊郁良, 杨长久, 张洪基, 肖昌华, 陈锡兰. 1982. 尖吻蝮蛇毒去纤酶制剂对家兔体内外凝血作用的影响. 动物学研究, **3** (2): 145-152.]

Wang X, Song Y, Li J, Liu H, Xu X, Lai R, Zhang K. 2007. A new family of antimicrobial peptides from skin secretions of *Rana pleuraden* [J]. *Peptides*, **28** (10): 2069-2074.

Wei JF, Wei Q, Lu QM, Tai H, Jin Y, Wang WY, Xiong YL. 2003. Purification, characterization and biological activity of an L-amino acid oxidase from *Trimeresurus mucrosquamatus* venom [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, **35** (3): 219-224.

Wei Q, Lu QM, Jin Y, Li R, Wei JF, Wang WY, Xiong YL. 2002. Purification and cloning of a novel C-type lectin-like protein with

platelet aggregation activity from *Trimeresurus mucrosquamatus* venom [J]. *Toxicon*, **40** (9): 1331-1338.

Wu JB, Jin Y, Zhong SR, Chen RQ, Zhu SW, Wang WY, Lu QM. 2008. A unique group of inactive serine protease homologues from snake venom [J]. *Toxicon*, **52**: 277-284.

Xiao CH, He LF, Tang SZ, Yang JR. 1989. Studies on the thrombin-like principles of *Agkistrodon acutus* venom. II. Studies on activity of enzymology and hematology [J]. *Zool Res,* **10** (3): 213-218 [肖昌华, 何丽芬, 唐绍宗, 杨筠茹. 1989. 尖吻蝮(*Agkistrodon acutus*)蛇毒凝血酶样成分的研究Ⅱ. 酶学与血液学活的研究. 动物学研究, **10** (3): 213-218.]

Xiong YL, Zou RJ, Hou YT, Liu CQ, Zhou XL, Li JY. 1975. Experimental studies on curing elapid bite with trypsin [J]. *Sci Sin*, **5**: 505-508. [熊郁良, 邹洳金, 候意帝, 刘次全, 周腥良, 李靖炎. 1975. 胰蛋白酶处理眼镜蛇科蛇毒中毒的实验研究. 中国科学, **5**: 505-508.]

Xiong YL, Li HP, Yao RY. 1983. Trypsin in venomous snakebite. Report of 471 cases [J]. *Chn Med J*, **96**(1): 69-72.

Xiong YL, Wang WY, Yang CJ, Tian YF. 1989. Inhibitory effects of the *Elapidae* venoms in the mice's sarcoma 180 ehrilich ascititers carcinoma [J] *Zool Res*, **10** (1): 31-35. [熊郁良, 王婉瑜, 杨长久, 田云芬. 1989. 眼镜蛇科蛇毒对 S180, EAC 腹水癌治疗作用研究. 动物学研究, **10** (1): 31-35.]

Xiong YL, Wang WY, Zhang Y, Liu NK. 1994. Systematic treatment of snake bite [J]. *Chn Snake J*, **3**(4), 29-33. [熊郁良, 王婉瑜, 张 云, 刘念昆. 1994. 蛇伤综合治疗研究. 中国蛇学杂志, **3**(4), 29-33.]

Xiong YL, Zou RJ, Ye ZZ, Chen XL. 1979a. Experimental studies on treatment of viperide snakebite with tripsin [J]. *Acta Pharmaceut Sin*, **14** (7): 385-388. [熊郁良, 邹洳金, 叶智章, 陈锡兰. 1979a. 胰蛋白酶治疗蝰科蛇毒中毒的研究. 药学学报, **14** (7): 385-388.]

Xiong YL, Zou RJ, Yang DT, Kuang FR, Zhao EM, Fei L, Wang YM, Mo YM, Yang HC. 1979b. Experimental studies on therapy for venomous snakebite with Yunnan Snakebite Drug [J]. *Acta Pharmaceut Sin*, **14** (9): 557-560 [熊郁良, 邹洳金, 扬大同, 匡傅仁, 赵尔密, 费 良, 江跃明, 莫云祥, 扬恒初. 1979b. 云南蛇药的研究. 药学学报, **14** (9): 557-560.]

Xu JM, Song ST, Jiang ZF, Zhang GH, Zhao GH, Ning JM, Xu XL, Xiong YL. 1999a. A double-blind, double-dummy, crossover trial of Keluoqu in the management of cancer pain [J]. *Chn J Clin Pharmacol*, **15**(3): 178-182. [徐建明, 宋三泰, 江泽飞, 张国华, 赵桂洪, 宁嘉明, 徐孝良, 熊郁良. 1999a. 克洛曲对癌痛的双盲双模拟自身交叉研究. 中国临床药理学杂志, **15**(3): 178-182.]

Xu TR, Wang WY, Huang YH, Meng QX, Li DS, Lu QM, Xiong YL. 1999b. A nerve growth factor from the venom of Chinese cobra (*Naja naja atra*) and its effects on male reproductive system in rats [J]. *Comp Biochem Physiol C*: *Pharmacol Toxicol Endocrinol*, **124**(2): 149-156.

Xu X, Li J, Han Y, Yang H, Liang J, Lu Q, Lai R. 2006. Two antimicrobial peptides from skin secretions of *Rana grahami* [J]. *Toxicon*, **47**(4): 459-464.

Xu X, Yang H, Ma D, Wu J, Wang Y, Song Y, Wang X, Lu Y, Yang J, Lai R. 2008a. Toward an understanding of the molecular mechanism for successful blood feeding by coupling proteomics analysis with pharmacological testing of horsefly salivary glands [J]. *Mol Cell Proteomics*, **7** (3): 582-590.

Xu XQ, Lai R. 2008b. Antihemostatic Molecules From Saliva of Blood-Feeding Arthropods [J]. *Prog Biochem Biophys*, **35**: 757-765. [徐学清, 赖 仞. 2008. 吸血节肢动物唾液腺来源的抗止血物质. 生物化学与生物物理进展, **35**: 757-765.]

Yan X, Feng H, Yu H, Yang X, Liu J, Lai R. 2008. An immunoregulatory peptide from salivary glands of the horsefly, *Hybomitra atriperoides* [J]. *Dev Comp Immunol*, **32** (10): 1242-1247.

Yang H, Wang X, Liu X, Wu J, Liu C, Gong W, Zhao Z, Hong J, Lin D, Wang Y, Lai R. 2009. Antioxidant peptideomics reveals novel skin antioxidant system [J]. *Mol Cell Proteomics*, **8**: 571-583.

Yang JH, Zhang HJ, Li YQ, Xiao CH, Xiong YL. 1982. The anticoagulant effect of defibrase in normal human [J]. *Chn Med J*, **62**: 324-327. [杨靖华, 张洪基, 李应权, 肖昌华, 熊郁良. 1982. 去纤酶在正常人体内的抗凝血效应. 中华医学杂志, **62**: 321-324.]

Yang Y, Wang XT, Liu HW, Cui M, Zheng B, Wang SQ, Wang PL, Wang R. 1999. Clinical observation on postoperative analgesic effects of the compound KeTongNing (a report of 92 cases) [J]. *Chn J Pract Surg*, **19**(4): 217-219. [杨 彦, 王相田, 刘武红, 催 明, 郑 斌, 王世清, 王丕琳, 王 荣. 1999. 复方克痛宁术后镇痛效果临床观察. 中国实用外科杂志, **19**(4): 217-219.]

Ye ZH, Yu L, Tu GC, Ran RL, Ruan CG, Chen CK, Chen DW, Yan JY, Chen YS. 1981. The action of fibrinolytic principle obtained from the venom of *Agkistrodon halys* on blood coagulation system [J]. *Zool Res*, **2** (1): 33-40. [叶智彰, 于 力, 涂光传, 冉永禄, 阮长耿, 陈重坤, 陈大卫, 严菊英, 陈悦书. 1981. 浙江产蝮蛇(*Agkistrodon halys Pallas*)蛇毒纤溶组份对凝血系统的作用. 动物学研究, **2** (1): 33-40.]

You D, Hong J, Rong M, Yu H, Liang S, Ma Y, Yang H, Wu J, Lin D, Lai R. 2009. The first gene-encoded amphibian neurotoxin [J]. *J Biol Chem*, **284** (33): 22079-22086.

Yu D, Liang J, Yu H, Wu H, Xu C, Liu J, Lai R. 2006a. A tick B-cell inhibitory protein from salivary glands of the hard tick, *Hyalomma asiaticum asiaticum* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **343** (2): 585-590.

Yu D, Sheng Z, Xu X, Li J, Yang H, Liu Z, Rees HH, Lai R. 2006b. A novel antimicrobial peptide from salivary glands of the hard tick, *Ixodes sinensis* [J]. *Peptides*, **27**(1): 31-35.

Zha HG, Lee WH, Zhang Y. 2001. cDNA cloning and characterization of C-type lectins from *Elapidae* snakes *Bungarus fasciatus* and *Bungarus multicinctus* [J]. *Toxicon*, **39**: 1887-1892.

Zhang HJ, Xiao CH, Tang SZ, Yang JR. 1981. Study on isolation from the venom of *Agkistrodon acutus* and its biological activity [J]. *Zool Res*, **1** (2): 157-162. [张洪基, 肖昌华, 唐绍宗, 杨筠茹. 1980. 尖吻蝮(*Agkistrodon acutus*)蛇毒的分离及其生物活性的研究. 动物学研究, **1** (2): 157-162.]

Zhang Y, Lee WH, Xiong YL, Wang WY, Zhu SW. 1994. Characterization of OhS1, an arginine/lysine amidase from the venom of King cobra [J]. *Toxicon*, **32**: 615-623.

Zhang Y, Wisner A, Bon C. 1995a. Molecular cloning and expression of a novel snake venom plasminogen activator [J]. *Thromb Haemost*, **73**: 1130-1130.

Zhang Y, Xiong YL, Bon C. 1995b. An activator of blood coagulation factor X from the venom of *Bungarus fasciatus* [J]. *Toxicon*, **33**: 1277-1288.

Zhang Y, Wisner A, Xiong YL, Bon C. 1995c. A novel plasminogen activator from snake venom, purification, characterization, and molecular cloning [J]. *J Biol Chem*, **270**: 10246-10255.

Zhang Y, Wisner A, Maroun RC, Choumet V, Xiong YL, Bon C. 1997. *Trimeresurus stejnegeri* snake venom plasminogen activator, site-directed mutagenesis and molecular modeling [J]. *J Biol Chem*, **272**: 20531-20537.

Zhang Y, Lee WH, Gao R, Lu QM, Wang WY, Xiong YL. 1998a. Snake venom serine proteases, structure-function features and effects on blood coagulation [J]. *Zool Res*, **19**(2), 97-106. [张 云, 李文辉, 高荣, 吕秋敏, 王婉瑜, 熊郁良. 1998a. 蛇毒丝氨酸蛋白酶结构与功能特性及其对血液凝固系统的作用. 动物学研究, **19** (2): 97-106.]

Zhang Y, Lee WH, Gao R, Xiong YL, Wang WY. 1998b. Primary Amino Acid Sequence of a Thrombin like Enzyme from the Venom of Trimeresurus Stejnegeri [J]. *Chn J Biochem Mol Biol*, **14** (1): 77-81. [张 云, 李文辉, 高 荣, 熊郁良, 王婉瑜. 1998b. 竹叶青蛇毒凝血酶样酶氨基酸序列报道. 中国生物化学和分子生物学学报, **14** (1):

77-81.]

Zhang Y, Gao R, Lee WH, Zhu SW, Xiong YL, Wang WY. 1998c. Characterization of a fibrinogen-clotting enzyme from *Trimeresurus stejnegeri* venom, and comparative study with other venom proteases [J]. *Toxicon*, **36** (1): 131-142.

Zhang Y, Lee WH, Gao R, Xiong YL, Wang WY, Zhu SW. 1998d. Effects of Pallas' viper (*Agkistrodon halys pallas*) venom on blood coagulation and characterization of a prothrombin activator [J]. *Toxicon*, **36** (1): 143-152.

Zhang Y. 2006. Amphibian skin secretions and bio-adaptive significance-implications from Bombina maxima skin secretion proteome [J]. *Zool Res*, **27** (1): 101-112. [张 云. 2006a. 两栖类动物皮肤分泌物及其生物学适应意义—大蹼铃蟾皮肤分泌物蛋白质多肽组的启示. 动物学研究, **27** (1): 101-112.]

Zhang YJ, Wang JH, Lee WH, Wang Q, Liu H, Zheng YT, Zhang Y. 2003. Molecular characterization of *Trimeresurus stejnegeri* venom L-amino acid oxidase with potential anti-HIV activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **309** (3): 598-604.

Zhang J, Zhang Y, Wan SG, Wei SS, Lee WH, Zhang Y. 2005a. Bm-TFF2, a trefoil factor protein with platelet activation activity from frog *Bombina maxima* skin secretions [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **330**: 1027-1033.

Zhang YX, Lai R, Lee WH, Zhang Y. 2005b. Frog albumin is expressed in skin and characterized as a novel potent trypsin inhibitor [J]. *Protein Sci*, **14**: 2469-2477.

Zhang YX, Wang YY, Lee WH, Zheng YT, Zhang Y. 2006. Apoptotic activity of frog *Bombina maxima* skin albumin [J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, **143**: 153-159.

Zhao Y, Jin Y, Lee WH, Zhang Y. 2005a. Isolation and characterization of a 22-kDa protein with trypsin inhibitory activity from toad *Bufo andrewsi* skin [J]. *Toxicon*, **46**: 277-281.

Zhao Y, Jin Y, Wei SS, Lee WH, Zhang Y. 2005b. Purification and characterization of an irreversible serine protease inhibitor from skin secretions of *Bufo andrewsi* [J]. *Toxicon*, **46**: 635-640.

Zhao Y, Jin Y, Wang JH, Wang RR, Yang LM, Lee WH, Zheng YT, Zhang Y. 2005c. A novel heme-containing protein with anti-HIV-1 activity from skin secretions of *Bufo andrewsi* [J]. *Toxicon*, **46**: 619-624.

Zhao H, Gan TX, Liu XD, Jin Y, Lee WH, Shen JH, Zhang Y. 2008. Identification and characterization of novel reptile cathelicidins from elapid snakes [J]. *Peptides*, **29** (10): 1685-1691.

Zhong SR, Jin Y, Wu JB, Chen RQ, Jia YH, Wang WY, Xiong YL, Zhang Y. 2006. Characterization and molecular cloning of dabocetin, a potent antiplatelet C-type lectin-like protein from *Daboia russellii siamensis* venom [J]. *Toxicon*, **47**: 104-112.

Zhong SR, Jin Y, Wu JB, Jia YH, Xu GL, Wang GC, Xiong YL, Lu QM. 2009. Purification and characterization of a new L-amino acid oxidase from *Daboia russellii siamensis* venom [J]. *Toxicon*, **54** (6): 763-671.

Zhou XD, Ding CH, Tai H, Jin Y, Chen RQ, Lu QM, Wang WY, Xiong YL. 2004a. A novel disintegrin, jerdonatin, inhibits platelet aggregation and sperm-egg binding [J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, **139** (1): 117-22.

Zhou XD, Jin Y, Chen RQ, Lu QM, Wu JB, Wang WY, Xiong YL. 2004b. Purification, cloning and biological characterization of a novel disintegrin from *Trimeresurus jerdonii* venom [J]. *Toxicon*, **43** (1): 69-75.

Zhou Z, Yang H, Xu X, Wang X, Lai R. 2006. The first report of kininogen from invertebrates [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **347** (4): 1099-1102.

中国动物学会
致《动物学研究》创刊三十周年的贺信

欣闻《动物学研究》创刊三十周年，中国动物学会谨表示热烈祝贺！并向多年支持贵刊发展的作者、广大读者及期刊的编委、编辑们表示衷心的感谢!

《动物学研究》是在改革开放的大潮中诞生的。三十年来，《动物学研究》在介绍动物学研究方法、经验交流、人才培养、繁荣学术研究及推动动物学各学科发展等方面发挥了重要作用。

望贵刊编委、编辑部的同志们再接再励，与动物学领域其他兄弟期刊一道，共同为推动我国学科建设做出更大贡献。

中国动物学会

2010年1月1日